REAGENT RED BLOOD CELLS
REFERENCELLS® Pooled Cells
For ABO Serum Grouping

- IVD
- 1°C 10°C
- 2-4% Suspension
- Discard if markedly hemolyzed
- No US standard of potency
- Preservatives: chloramphenicol (0.25 mg/mL) neomycin sulfate (0.1 mg/mL) gentamycin sulfate (0.05 mg/mL)

CAUTION: ALL BLOOD PRODUCTS SHOULD BE TREATED AS POTENTIALLY INFECTIOUS. THE PACKAGING OF THIS PRODUCT (DROPPER BULBS) CONTAINS DRY NATURAL RUBBER.

Immucor, Inc.
Norcross, GA 30071 USA
US license 886
EC REP ImmucorGamma Benelux
6220 Charleroi BELGIUM

300-14

REAGENT RED BLOOD CELLS

Referencells® – 4
(Group A_1, A_2, B and O)
Referencells® – 2
(Group A_1 and B)
Referencells® – 1
(Group A_2)
for ABO Serum Grouping

IMMUCOR GAMMA

Uso esperado:

For ABO Serum Grouping	Para grupo de suero ABO

Referencells (Pooled Cells) están diseñadas para ensayos uso en tubo y microplaca ▲de grupo de suero ABO.

Sumario del test:
Debido a la importancia de los grupos ABO en la transfusión, el grupo sérico o de suero, se utilizan los hematíes de grupos ABO conocidos, como adjuntos para los hematíes o para la determinación de grupo hemático (usando Anti-A y Anti-B).[1-3] Como mínimo, los test de grupaje de suero deben emplear, por lo menos hematíes A_1 y B para así detectar los anti-A o anti-B. Los reactivos de hematíes de grupaje de suero adicionales se pueden utilizar para resolver las discrepancias entre el grupaje de hematíes y de suero. Los hematíes que se usan con más frecuencia para identificar el anti-A_1 en el suero de la población de grupo A, son los llamados A_z. Los hematíes de grupo O se usan para identificar la aglutinación, debido a los aglutininos no ABO.

Principio del Test :
El sistema ABO es el único sistema de grupo sanguíneo en el que las personas, mayores de 6 meses, producen, de una forma consistente y predecible, anticuerpos a los antígenos que les faltan. Como consecuencia, el grupaje de ABO se lleva a cabo con suero además de hematíes. El suero se ha examinado, de una manera sistemática, con los hematíes reactivos Referencells. La aglutinación de los hematíes A_1, A_2 o B constituye un test positivo y es el resultado de una reacción entre un antígeno y su respectivo anticuerpo. La ausencia de aglutinación puede indicar, por un lado, la falta de anticuerpo (siempre y cuando los hematíes posean el antígeno correspondiente), o bien que un anticuerpo, si está presente, está en unas concentraciones demasiado bajas para ser detectadas mediante la técnica serológica empleada. El grupo ABO de una muestra de suero o plasma debe igualar a la de los hematíes. La aglutinación de los hematíes del grupo O, muestra la presencia de un anticuerpo reactivo frío, a parte del anti-A y anti-B e indica que las reacciones con los hematíes A y B no pueden ser debidas al anti-A o anti-B.

Reactivos:

REAGENT RED BLOOD CELLS	REACTIVO DE HEMATÍES

Referencells - 4 es un set de 4 viales que comprende células A_1, A_2, B y O.

Referencells – 2 es un set de 2 viales que comprende células A_1 y B.

Referencells – 1 es un único vial con el reactivo de células A_2.

Pooled Cells	Pooled Cells

Cada vial contiene una resuspensión de un 2 al 4% de hematíes C-D-E unidos, resuspendidos en una solución conservante tamponada, que contiene adenosina y adenina para retrasar la hemólisis y/o la pérdida de antígenos durante el periodo de caducidad. Se añade EDTA para inhibir la activación de complemento y para prevenir la hemólisis cuando los hematíes se examinan con suero fresco. Se añade como conservantes, cloramfenicol (0.25 mg/mL), sulfato de neomicina (0.1 mg/mL), y sulfato de gentamicina (0.05 mg/mL). El diluente no interfiere en la hemólisis de complemento mediado.
No existe estándar US de potencia.

Precauciones:
Para diagnóstico in vitro.

Almacenar entre 1-10 C cuando no se utilice. No congelar ni exponer a temperaturas elevadas.

Key:
Underline = Addition or significant change; ▲ = Deletion of text

Evitar la contaminación del producto durante su uso. La contaminación afecta negativamente al funcionamiento del producto durante su vida útil. No usar reactivos contaminados. No usar una vez pasada la fecha de caducidad. No usar viales que gotean. No usar viales sin etiquetar.

El formato de la fecha de caducidad se expresa como CCYY-MM-DD (año-mes-día).

Discard if markedly hemolyzed	Descartar si presenta hemólisis.

Resuspender los hematíes antes de usar invirtiendo cada vial suavemente bastantes veces. Los hematíes reactivos no se deben usar si los hematíes se oscurecen, se coagulan de una forma espontánea, o si existe una hemólisis importante. Con el tiempo puede aparecer una ligera hemólisis. En este caso, los hematíes se pueden resuspender y lavar en salina inmediatamente antes de utilizarlos.

NOTA: el lavado elimina el EDTA presente en el diluyente. De esta manera, las Referencells que han sido lavadas antes de realizar el ensayo pueden hemolizar en suero fresco que contenga anti-A o anti-B hemolíticas.
Manipular y eliminar los reactivos de hematíes como potencialmente infecciosos.

CAUTION: ALL BLOOD PRODUCTS SHOULD BE TREATED AS POTENTIALLY INFECTIOUS. THE PACKAGING OF THIS PRODUCT (DROPPER BULBS) CONTAINS DRY NATURAL RUBBER.	PRECAUTION: TODOS LOS PRODUCTOS SANGUÍENOS DEBEN TRATARSE COMO POTENCIALMENTE INFECCIOSOS. EL EMBALAJE DE ESTE PRODCUTO (GOTERO) CONTIENE CAUCHO NATURAL SECO.

ADVERTENCIA: TODOS LOS PRODUCTOS SANGUÍNEOS DEBEN TRATARSE COMO POTENCIALMENTE INFECCIOSOS. EL MATERIAL ORIGINAL DEL CUAL SE DERIVA ESTE PRODUCTO SE DETERMINÓ COMO NEGATIVO, CUANDO SE EXAMINÓ DE ACUERDO CON LOS MÉTODOS DE TEST REQUERIDOS POR LA FDA. NINGÚN MÉTODO CONOCIDO DE TEST NOS PUEDE ASEGURAR QUE LOS PRODUCTOS DERIVADOS DE SANGRE HUMANA NO TRANSMITAN AGENTES INFECCIOSOS. EL EMBALAJE DE ESTE PRODUCTO CONTIENE GOMA SECA NATURAL (GOTERO).

▲

Preparación y extracción de la muestra:
Extraer una muestra de sangre utilizando una técnica de flebotomía aceptable. En tests manuales, o en tests usando instrumentos semiautomáticos, se puede usar suero o plasma fresco (EDTA, heparina, ACD, CPD, CPDA-1, CP2D) ▲. La prueba se debe llevar a cabo, tan pronto como sea posible, después de la extracción, para así minimizar la posibilidad de que las reacciones falsamente positivas o negativas ocurran, debido a un almacenamiento inadecuado o a la contaminación de la muestra. En caso de que las muestras no se puedan examinar inmediatamente, se deben almacenar a una temperatura de 1 a 10 ° C, si es posible. Alternativamente, se puede separar el suero o el plasma de los hematíes y almacenarlos congelándolos. Los anticuerpos débilmente reactivos pueden ser un elemento de deterioro y llegar a ser indetectables en muestras almacenadas en temperatura ambiente durante bastantes días antes de realizar las pruebas, o bien en muestras almacenadas durante periodos prolongados a una temperatura de 1 a 10 ° C. No usar muestras extraídas en tubos con separadores neutrales de gel. Estas muestras pueden provocar resultados falso-positivos.

Procedimiento:
Materiales Suministrados:
Referencells en viales con gotero listos para su uso
Materiales adicionales requeridos:
Todos los métodos:

1. Muestra de donante o paciente
2. Rotuladores

Métodos en tubo:

1. tubos ensayo de 10 x 75 mm o 12 x 75 mm y gradillas
2. Pipetas de Transferencia
3. Centrífuga serológica*
4. Cronómetro
5. salina isotónica o salina isotónica tampón fosfato (aproximadamente 15 mM) pH 6.5-7.5

▲

Métodos en microplaca o micropocillos:

1. Pipetas de transferencia o sistema de pipetación *
2. Microplacas, micropocillos o Tiras Immucor Hemoaglutinación/Dilución
3. Centrífuga*
4. salina isotónica o salina isotónica tampón fosfato (aproximadamente 15 mM) pH 6.5-7.5
5. agitador de microplacas mecánico* (opcional)
6. lector de microplacas* (opcional)

* Es responsabilidad del usuario validar los accesorios adicionales que se utilicen. Los resultados de la validación deben mantenerse como parte de los registros del laboratorio y pueden ser revisado por las agencies reguladoras.

▲

Método en Tubo:

1. Etiquetar 1 tubo para cada una de las Referencells a analizar.
2. Añadir 2 gotas de suero o plasma a cada tubo.
3. invertir suavemente cada reactivo varias veces para suspender completamente los hematíes.
4. Añadir 1 gota de cada reactivo a los respectivos tubos etiquetados. Mezclar los contenidos de cada tubo minuciosamente.
5. Centrifugar cada tubo.* Suspender suavemente cada botón de hematíes y examinar la presencia de aglutinación. Anotar los resultados**.

* Tiempo sugerido de centrifugación: de 15 a 30 segundos a 900-1000 x g o a un tiempo apropiado a la centrífuga utilizada, que produzca la reacción más fuerte del anticuerpo con los hematíes de antígeno positivos, y además permita una resuspensión fácil de los hematíes de antígeno negativos.

** Debido a la presencia de los anticuerpos ABO débilmente reactivos puede ser necesaria una incubación de 5 a 60 minutos a una temperatura ambiente para aumentar las reacciones.

Método en microplaca:

▲

1. Etiquetar la placa o tira a analizar.
2. Invertir suavemente cada reactivo varias veces para suspender completamente los hematíes.
3. Añadir 25-50 uL (+ 5 uL) de cada Referencells en pocillos separados.
   NOTA: las Referencells se fabrican como suspensiones al 2-4%. Algunos usuarios de microplaca prefieren suspensiones al 1%. Si se desea una suspensión más clara, diluir una alícuota de cada reactivo Referencells con salino isotónico. La dilución de los reactivos reducirá el contenido de EDTA, por tanto los hematíes pueden hemolizar en presencia de anti-A o anti-B hemolíticos. Referencells diluidos en salino deben usarse en las siguientes 24 horas.
4. Añadir 2 gotas (100 + 5 uL) del suero o plasma de donante o paciente a cada pocillo. Mezclar el contenido de cada pocillo mediante agitación o con un agitador de placas, de forma suave pero minuciosa. pero minuciosa.
5. Centrifugar los tests a 150-250 x g durante 60 segundos, o durante un tiempo y una velocidad adecuada para producir resultados positivos con un suero o plasma positivo para anticuerpos y resultados negativos con un suero o plasma negativo para anticuerpos.
6. Agitar los pocillos para suspender los botones celulares mediante agitación manual o agitador de placas y examinar si existe aglutinación. Anotar los resultados.* (se puede usar una ayuda óptica para examinar las reacciones en cada pocillo si se desea.)

* Debido a la presencia de los anticuerpos ABO débilmente reactivos puede ser necesaria una incubación de 5 a 60 minutos a una temperatura ambiente para aumentar las reacciones.

Para tests en microplaca con instrumentos automatizados, consultar las instrucciones suministradas en el manual del operador del instrumento.

▲

Estabilidad de la Reacción:

Después de la centrifugación se deben examinar inmediatamente todos los tubos de ensayo, y los resultados se deben interpretar sin retraso alguno. Los retrasos pueden provocar una disociación de los complejos de antígeno-anticuerpo, provocando unas reacciones falsamente negativas o, como máximo, débilmente positivas. Los test de microplaca se deben interpretar inmediatamente después de la resuspensión, para evitar resultados de test erróneos debido al emplazamiento de los hematíes o a la disociación de los aglutinados de éstos. ▲

Control de Calidad:

Se recomienda que se examine este reactivo durante cada día de su uso, para así confirmar la reactividad correcta de los hematíes A(1), A(2) y B, con el anticuerpo apropiado ABO débilmente reactivo. La falta de reactividad indica que el reactivo no es apto para el uso.

Para el test con instrumentos automatizados consultar las instrucciones suministradas en el manual del usuario del instrumento.

▲

Interpretación de los resultados:

Test positivo: aglutinación de los hematíes

Test Negativo: no aglutinación

▲

RESULTADOS DE GRUPO SANGUÍNEO ESPERADOS

	Reactivo Hematíes			
Grupo Sanguíneo	**A_1**	**A_2**	**B**	**O**
O	+	+	+	0
A_1	0	0	+	0
A_2	0	0	+	0
A_2 con anti-A_1	+	0	+	0
B	+	+	0	0
A_1B	0	0	0	0
A_2B con Anti-A_1	+	0	0	0

Limitaciones:

Los resultados del test falsamente positivos o negativos pueden darse debido a la contaminación bacteriana o química de los materiales del test, a una temperatura o a un tiempo inadecuado de centrifugación, a un almacenamiento impropio de los materiales, o bien a la omisión de los reactivos del test.

El reactivo A_1, A_2 y los hematíes B poseen otros antígenos a parte del A o el B. Se puede dar el caso, de que en alguna ocasión un suero en particular contenga un aglutinino de fase de salina que defina uno de estos antígenos. La aglutinación no relacionada con el ABO, puede interferir en los test de grupo de suero. La aglutinación directa de un control negativo (hematíes de grupo O) mediante un muestra de test, sugiere que la aglutinación de los hematíes A o B con la misma se debe seguir investigando.

Los hematíes de grupo O de Referencells (Pooled Cells) NO CUMPLEN CON LOS REQUISITOS DE LA FDA como hematíes reactivos indicado para el escrutinio de anticuerpos inesperados.

Las reacciones negativas se pueden obtener con uno o más hematíes reactivos, si la muestra contiene anticuerpos en concentraciones demasiado bajas para se detectadas mediante los métodos de test empleados. Se ha detectado una actividad disminuida en los antígenos A y B en las muestras de pacientes de edad avanzada, o por lo contrario de pacientes que están en un estado débil de menos de 6 meses de edad.

Los anticuerpos ABO de la mayoría de grupos A, B o O de adultos, aglutinan de forma muy fuerte los hematíes A_1, A_2 y B (3-4+). Las reacciones de 2+ o menores, pueden indicar que la reacción se debe a una anticuerpo que no se el anti-A o el anti-B. De esta forma, las reacciones débilmente positivas se deben evaluar con cuidado para asegurar que no existe discrepancia ABO y que, además, el grupo ABO asignado es el correcto

Las muestras umbilicales pueden contener anti-A y/o anti-B materno, y, por lo tanto, no ofrecerán resultados fiables de grupo de suero.

Es bastante infrecuente que ocurran resultados positivos falsos cuando estén presentes los anticuerpos dirigidos a los componentes del disolvente de los hematíes. Estas reacciones no deseadas se pueden normalmente evitar utilizando los hematíes reactivos que se hayan lavado con salina antes de la prueba.

Con referencia al método con microplacas, las microplacas nuevas o de plástico son capaces de absorber pasivamente células y proteínas del suero en la superficie. Esta absorción no específica puede provocar la aparición de resultados erróneos. Para superar esta característica, las microplacas deben ser tratadas antes de usar para bloquear la absorción no específica. Las Tiras Immucor Hemoaglutinación/Dilución están preparadas por el fabricante y no requieren ningún tipo de tratamiento.

La reactividad del los Reactivos de Hematíes, puede disminuir durante la vida útil. El ritmo de pérdida de reactividad del antígeno (pe, aglutinabilidad) depende parcialmente de las características individuales del donante que no son controladas o predecidas por el fabricante.

▲

Key:
Underline = Addition or significant change; ▲ = Deletion of text

Características específicas de funcionamiento:
Antes de lanzarse al mercado, cada lote de Immucor Referencells se examina mediante las lectinas Anti-A, Anti-B y Anti-A_1 de acuerdo con los métodos del insert. El buen funcionamiento de este producto depende del seguimiento de los métodos recomendados en este insert. Se ha demostrado que cada muestra del donante es D-C-E-c+e+ mediante dos laboratorios independientes, que han utilizado un número elevado de fuentes de donantes. A la misma vez, también se ha demostrado, que todas las resuspensiones examinadas ofrecen un resultado del test directo de antiglobulina negativo, usando antiglobulina humana poliespecífica. Puede recibir información adicional referente a las pruebas realizadas durante la fabricación, consultando al Servicio Técnico de Immucor al 800-492-BLUD (2583) o al 770-441-2051.
La fecha de caducidad se fija después de 60 días desde la fabricación, lo que representa la fecha en la que se extrajo por primera vez la sangre del donante utilizada en los componentes de este producto.

La licencia US no aplica a las células de control O.

Bibliografía:

1. Issitt PD, Anstee DJ. Applied blood group serology, 4th ed. Durham NC: Montgomery Scientific Publications, 1998.
2. Race R, Sanger R. Blood groups in man, 6th ed. Oxford: Blackwell Scientific, 1975.
3. Brecher ME. ed. Technical manual. 14th ed. Bethesda MD: American Association of Blood Banks, 2002.

▲

CE
0088

Código Insert: 300es-14
Rev 12/05

Key:
Underline = Addition or significant change; ▲ = Deletion of text